



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102846552 B

(45) 授权公告日 2014. 10. 08

(21) 申请号 201210287792. 6

(22) 申请日 2012. 08. 13

(73) 专利权人 北京大学

地址 100191 北京海淀区学院路 38 号

(72) 发明人 齐宪荣 高玮

(74) 专利代理机构 北京华科联合专利事务所

(普通合伙) 11130

代理人 王为

(51) Int. Cl.

A61K 9/14(2006. 01)

A61K 31/337(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101439020 A, 2009. 05. 27,

CN 101366697 A, 2009. 02. 18,

CN 102166189 A, 2011. 08. 31,

CN 102579341 A, 2012. 07. 18,

Xiang Li et al..Preparation and pharmacokinetics of docetaxel based on nanostructured lipid carriers. 《Journal of Pharmacy and Pharmacology》. 2009, 第 61 卷

Donghua Liu et al..Nanostructured lipid carriers as novel carrier for parenteral delivery of docetaxel. 《Colloids and Surfaces B: Biointerfaces》. 2011, 第 85 卷

刘东华. 多西他赛纳米脂质载体的研究. 《中国优秀硕士学位论文全文数据库 医药卫生科技辑》. 2012, (第 04 期),

杨平等. 多西他赛纳米脂质载体的制备及其性质考察. 《沈阳药科大学学报》. 2008, 第 25 卷 (第 3 期),

审查员 耿银银

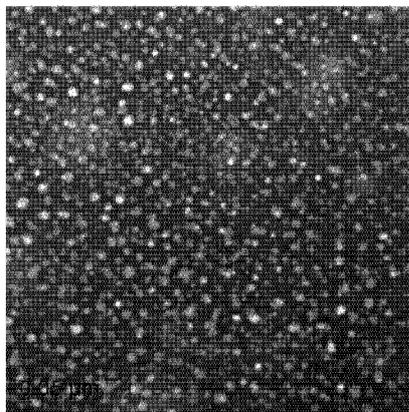
权利要求书1页 说明书7页 附图6页

(54) 发明名称

多西他赛脂质纳米粒的制备和应用

(57) 摘要

本发明公开了多西他赛脂质纳米粒的制备和应用,本发明多西他赛脂质纳米粒主要由治疗有效量的多西他赛、固态脂质材料、液态脂质材料、乳化剂和注射用生理盐水组成,本发明提供的多西他赛脂质纳米粒粒径适宜且分布均一,包封率高,可稳定贮存,同时具有良好的生物相容性和降解性,将多西他赛包载于脂质纳米粒中可以提高对肿瘤细胞的靶向性和内吞作用,提高其抗肿瘤疗效,降低毒副作用。



1. 多西他赛脂质纳米粒组合物,其特征在于,由以下重量配比的组分制备:

多西他赛	5mg
鲸蜡醇十六酸酯	87.5mg
辛酸癸酸三甘油酯	37.5mg
大豆卵磷脂	60mg
聚乙二醇 15 羟基硬脂酸酯	90mg
注射用生理盐水	5ml

所制备多西他赛纳米脂质载体粒径为 33.83nm;

制备方法:称取 87.5mg 鲸蜡醇十六酸酯以及 37.5mg 辛酸癸酸三甘油酯,5mg 多西他赛,加入少量无水乙醇溶解,60±2℃加热熔融,作为油相;称取大豆卵磷脂 60mg,聚乙二醇 15 羟基硬脂酸酯 90mg,加注射用生理盐水 5mL 超声溶解,迅速加热至油相相同温度作为水相;在磁力搅拌 400r/min 下将水相趁热滴加到乙醇挥尽的油相中,制备成 O/W 型初乳;将制备好的初乳迅速用探头式超声波细胞粉碎仪超声分散,功率为 100W,超声 1s,间歇 1s,超声时间 4min,冰水浴冷却,过 0.22 μm 微孔滤膜;测定粒径为 33.83nm,PDI 为 0.089,包封率为 98.26%。

2. 多西他赛脂质纳米粒组合物,其特征在于,由以下重量配比的组分制备:

多西他赛	5mg
鲸蜡醇十六酸酯	90mg
注射用花生油	40mg
大豆卵磷脂	50mg
聚乙二醇 15 羟基硬脂酸酯	80mg
泊洛沙姆 188	20mg
注射用生理盐水	5ml

所制备多西他赛纳米脂质载体粒径为 29.33nm;

制备方法:称取 90mg 鲸蜡醇十六酸酯以及 40mg 注射用花生油,5mg 多西他赛,加入少量无水乙醇溶解,60±2℃加热熔融,作为油相;称取大豆卵磷脂 50mg,聚乙二醇 15 羟基硬脂酸酯 80mg,泊洛沙姆 188 称量 20mg,加注射用生理盐水 5mL 超声溶解,迅速加热至油相相同温度作为水相;在磁力搅拌 400r/min 下将水相趁热滴加到乙醇挥尽的油相中,制备成 O/W 型初乳;将制备好的初乳迅速用探头式超声波细胞粉碎仪超声分散,功率为 60W,超声 1s,间歇 1s,超声时间 5min,冰水浴冷却,过 0.22 μm 微孔滤膜;测定粒径为 29.33nm,PDI 为 0.097,包封率为 97.92%。

多西他赛脂质纳米粒的制备和应用

技术领域

[0001] 本发明属于药物及其药物制剂领域，具体是涉及一种多西他赛脂质纳米粒及其制备方法和应用。

背景技术

[0002] 多西他赛（又名多烯紫杉醇，Docetaxel, DTX），作为新一代抗肿瘤药物，是由浆果紫杉树叶中提取，再经半合成得到的产物。多西他赛最初由法国罗纳普朗克乐安公司开发而成，用作乳腺癌、非小细胞肺癌的化疗药物。1996年5月获得FDA批准，商品名为泰素帝。用于化疗失败的转移性乳腺癌和铂类治疗失败的转移性非小细胞肺癌的治疗，随后在英、美、法、意、德、日等33个国家上市。该药物抗癌谱广，是现有药物中治疗转移乳腺癌（MBC）和非小细胞肺癌（NSCLC）最有效的单剂化疗药物。1996年多西他赛在我国进行临床验证，之后顺利上市销售。

[0003] 多西他赛抗肿瘤活性高且抗肿瘤谱广，对各种实体瘤具有广泛的细胞毒作用，已越来越多的用于多种实体瘤的治疗。目前在临床中主要用于乳腺癌、非小细胞肺癌、胰腺癌、软组织肉瘤、头颈癌、胃癌、卵巢癌和前列腺癌等的治疗，单独用药及联合用药均有显著疗效。

[0004] 多西他赛的作用机制是促进微管蛋白聚合及抑制微管解聚，“冻结”微管的组成部分——细胞内骨架的合成，导致形成稳定的非功能性微管束，从而破坏肿瘤细胞的有丝分裂。另有研究发现，多西他赛还能调节体内免疫功能，作用于巨噬细胞的肿瘤坏死因子（TNF）受体，促使TNF- α 1、白介素-1（IL-1）、白介素-2（IL-2）、白介素-6（IL-6）、 α 干扰素（IFN- α ）以及 β 干扰素（IFN- β ）的释放，从而对肿瘤细胞产生抑制和杀伤作用。

[0005] 多西他赛在水中的溶解度很低，口服不吸收，造成临床使用上的困难，目前上市剂型仅为注射液。此注射液采用吐温-乙醇做助溶剂，易产生过敏和溶血反应，会与一些联合使用的药物发生瞬间相互作用。因此，在使用多西他赛注射液治疗的同时，需要使用皮质激素和H1、H2受体拮抗剂（如口服地塞米松和H2受体拮抗剂西咪替丁、苯海拉明等），以消除不良反应的发生。

[0006] 为了消除目前市售多西他赛制剂存在的上述问题，提高该药物的溶解度，降低毒副作用、提高药物的生物利用率，研究和开发可供注射用的多西他赛脂质纳米粒的制剂有巨大的应用价值。

[0007] 脂质纳米粒或称纳米结构脂质载体（nanostructured lipid carriers, NLC）是在固体脂质纳米粒（solid lipid nanoparticles, SLN）基础上开发的新一代脂质纳米粒。NLC在固态脂质中混入不相容的液态脂质，从而扰乱固体脂质规则的晶格结构，增加纳米粒结构中不规则晶型的比例，使承载脂溶性药物的空间容量增加，从而提高载体的载药能力以及降低储藏过程包封药物泄漏的问题。

[0008] 脂质纳米粒是由具有生理相容性并可生物降解的脂质材料制得，因而具有下述优点：（1）纳米粒粒径小，平均粒径在纳米级，可用于注射给药；（2）生理可接受，载体无生物

毒性,制备过程中不使用有毒聚合物、单体等,无有毒残留物;(3)对亲脂性药物有足够的载药能力,比SLN的载药量高;通过工艺调整,也可以包封亲水性药物以及基因药物;(4)药物释放可以达到缓释、控释目的;(5)其水分散系统可以进行高压灭菌或 γ 辐射灭菌,具有长期的物理化学稳定性,也可将之冻干或喷雾干燥制成固体粉末;(6)通过对其表面进行特征修饰可控制靶向到特定组织(靶向给药);(7)有足以供应市场的大规模工业化生产方式;(8)原料价格相对较为低廉,制剂的成本低。

[0009] 本发明通过薄膜超声分散法、乳化溶剂蒸发法、溶剂扩散法以及高压乳匀法制备多西他赛脂质纳米粒,所制得的制剂粒径适宜而均匀(粒径在30~300nm,多分散指数<0.1),包封率高(>95%),稳定性好,生物相容性好,毒性低。提高抑瘤效果并降低了毒副作用,具有巨大的市场应用前景。

发明内容

[0010] 本发明的目的在于提供一种多西他赛脂质纳米粒制剂,该制剂粒径小并且可控,分布均一,包封率高,稳定性好,缓释和控释释放药物。制剂所用材料具有良好生物相容性,多西他赛制备成脂质纳米粒可以提高安全性,显著提高多西他赛的抗肿瘤疗效,同时降低毒副作用。制备工艺简单,原料成本价格低,适合工业化生产,具有良好地市场前景。本发明的另一个目的是提供一种上述多西他赛脂质纳米粒制剂的制备方法和应用。

[0011] 为实现上述目的,本发明通过以下技术方案实现:

[0012] 本发明提供一种多西他赛脂质纳米粒组合物,所述组合物由如下重量配比的组分制备而成:

[0013]

多西他赛	0.5~10mg
固态脂质	8~175mg
液态脂质	3~75mg
乳化剂	15~300 mg
注射用生理盐水	适量。

[0014] 其中所述固态脂质材料选自下列之一或它们的组合:十六烷基棕榈酸酯、鲸蜡醇十六酸酯、单硬脂酸甘油酯、甘油棕榈酸硬脂酸酯、甘油酯及其混合物(山嵛酸甘油酯)、硬脂酸、棕榈酸、石蜡、胆固醇。

[0015] 其中所述液态脂质材料选自下列之一或它们的组合:辛酸癸酸三甘油酯、二辛酸丙二醇酯、油酸、甘油三辛酸酯、辛酸/癸酸三甘油酯、辛酸/癸酸/亚油酸三甘酯、丙二醇二辛酸酯/二癸酸酯、红花油、大豆油、玉米油、花生油、橄榄油。

[0016] 其中所述乳化剂选自下列之一或它们的组合:聚乙二醇15羟基硬脂酸酯、泊洛沙姆188、聚乙二醇1000维生素E琥珀酸酯(TPGS)、天然大豆卵磷脂,天然蛋黄卵磷脂,天然磷脂酰胆碱或半合成磷脂酰胆碱及其衍生物。

[0017] 优选的,本发明的多西他赛脂质纳米粒组合物,由如下重量配比的组分制备而成:

[0018]

多西他赛	0.5~10mg
鲸蜡醇十六酸酯	8~175mg
辛酸癸酸三甘油酯	3~75mg
大豆卵磷脂+聚乙二醇15羟基硬脂酸酯	15~300 mg
注射用生理盐水	适量。

[0019] 特别优选的,本发明的多西他赛脂质纳米粒组合物,由如下重量配比的组分制备而成:

- [0020] 多西他赛 5mg
 [0021] 鲸蜡醇十六酸酯 87.5mg
 [0022] 辛酸癸酸三甘油酯 37.5mg
 [0023] 大豆卵磷脂 60mg,
 [0024] 聚乙二醇 15 羟基硬脂酸酯 90mg,
 [0025] 注射用生理盐水 5mL。

[0026] 本发明所述的多西他赛脂质纳米粒组合物的制备方法,可以采用薄膜超声分散法、乳化溶剂蒸发法、溶剂扩散法或高压乳匀法。

[0027] 其中薄膜超声分散法的步骤具体如下:

[0028] (1) 取多西他赛与固态脂质、液态脂质混合,用有机溶剂助溶,加热至 55-100℃,搅拌至熔融状态,形成油相备用;

[0029] (2) 将乳化剂溶于注射用生理盐水中,形成水相溶液,加热至于 55-100℃,备用;

[0030] (3) 将加热的水相缓慢滴加至油相中,在 400-800r/min 速度下搅拌,滴加完毕后,搅拌乳化 10-30min,得混悬液;

[0031] (4) 将混悬液转移至探头式超声波细胞粉碎仪以 80-300W 功率进行超声破碎 4-10min,将其冰水浴条件下低温固化,即得粒径在 30-300nm 的多西他赛脂质纳米粒。

[0032] 其中溶剂扩散法的步骤具体如下:

[0033] (1) 取多西他赛与固态脂质、液态脂质混合,用有机溶剂助溶,加热至 55-100℃,搅拌至熔融状态,形成油相备用;

[0034] (2) 将乳化剂溶于注射用生理盐水中,形成水相溶液,加热至于 55-100℃,备用;

[0035] (3) 将加热的油相在 700-1000r/min 搅拌速度下缓慢滴加至水相中,搅拌 2-4h;

[0036] (4) 将混悬液纳米乳剂在 800-1000r/min 的搅拌速度下快速混于 0℃的注射用生理盐水低温固化,最后继续搅拌 1.5-2.5h,即得粒径在 300nm 左右的多西他赛脂质纳米粒。

[0037] 其中高压乳匀法的步骤具体如下:

[0038] (1) 取多西他赛与固态脂质、液态脂质混合,用有机溶剂助溶,加热至 55-100℃,搅拌至熔融状态,形成油相备用;

[0039] (2) 将乳化剂溶于注射用生理盐水中,形成水相溶液,加热至于 55-100℃,备用;

[0040] (3) 将加热的水相缓慢滴加至油相中,在 400-800r/min 速度下搅拌,滴加完毕后,搅拌乳化 10-30min,得混悬液;

[0041] (4) 将混悬液转移至迅速用高压乳匀机中,在 80-120psi 的压力下乳匀 8-10 次后,将其冰水浴条件下低温固化,即得粒径在 30-300nm 的多西他赛脂质纳米粒。

[0042] 其中所述步骤(1)中,有机溶剂为无水乙醇,二氯甲烷,氯仿,甲醇,丙酮,乙酸乙酯中的任意一种或任意两种及两种以上的混合物。

[0043] 本发明所述组合物,可以制成供注射用制剂,如制备成注射用注射剂。

[0044] 用本发明方法制备的注射用多西他赛脂质纳米粒制剂,其包封率为 60%~99.5%,优选 95% 以上,粒径在 30-300nm,且分布均匀,优选粒径 ~30nm,多分散指数(PDI) <0.1。

[0045] 本发明的优点在于:

[0046] (1) 本发明的多西他赛脂质纳米粒制剂的平均粒径 <300nm,可以提高肿瘤细胞的内吞作用,提高抗肿瘤活性。相对于市售制剂,多西他赛脂质纳米粒制剂具有明显的缓释作用,可以延长药物在体内的循环滞留时间。

[0047] (2) 本发明的多西他赛脂质纳米粒制剂采用具有良好生物相容性的脂质材料,无毒,易降解,可以降低给药的毒副作用,提高多西他赛的治疗指数。

[0048] (3) 本发明的多西他赛脂质纳米粒制剂采用固态脂质和液态脂质的组合,由于加入了液态脂质,扰乱固体脂质规则的晶格结构,增加纳米粒结构中不规则晶型的比例,从而提高载药量和包封率,同时提高药物贮存的稳定性,降低储藏过程包封药物泄漏。

[0049] (4) 本发明的制备工艺简单成熟,材料成本低,便于工业生产。

附图说明

[0050] 图 1 为多西他赛脂质纳米粒制剂的透射电镜照片。

[0051] 图 2 为多西他赛脂质纳米粒制剂的粒度分布图。

[0052] 图 3 为多西他赛脂质纳米粒制剂的体外释放的释放百分率-时间曲线。

[0053] 图 4 为多西他赛脂质纳米粒制剂 MCF-7 细胞的细胞毒作用结果。

[0054] 图 5 为多西他赛脂质纳米粒制剂 A549 细胞的细胞毒作用结果。

[0055] 图 6 为多西他赛脂质纳米粒制剂 KB 细胞的细胞毒作用结果。

[0056] 图 7 为多西他赛脂质纳米粒制剂 HT-1080 细胞的细胞毒作用结果。

具体实施方式

[0057] 下面结合实施例对本发明作进一步的说明,但不以任何形式限制本发明。

[0058] 实例 1:

[0059] 称取 87.5mg 鲸蜡醇十六酸酯以及 37.5mg 辛酸癸酸三甘油酯,5mg 多西他赛,加入少量无水乙醇溶解,(60±2) °C 加热熔融,作为油相。称取大豆卵磷脂 60mg,聚乙二醇 15 羟基硬脂酸酯 90mg,加注射用生理盐水 5mL 超声溶解,迅速加热至油相相同温度作为水相。在磁力搅拌 400r/min 下将水相趁热滴加到乙醇挥尽的油相中,制备成 O/W 型初乳。将制备好的初乳迅速用探头式超声波细胞粉碎仪超声分散,功率为 100W,超声 1s,间歇 1s,超声时间 4min,冰水浴冷却,过 0.22 μ m 微孔滤膜。测定粒径为 33.83nm, PDI 为 0.089,包封率为 98.26%。

[0060] 实例 2:

[0061] 称取 120mg 山嵛酸甘油酯以及 30mg 辛酸癸酸三甘油酯,5mg 多西他赛,加入少量甲醇溶解,(80±2) °C 加热熔融,作为油相。称取大豆卵磷脂 50mg,聚乙二醇 15 羟基硬脂酸酯 90mg,加注射用生理盐水 5mL 超声溶解,迅速加热至油相相同温度作为水相。在磁力搅拌

500r/min 下将水相趁热滴加到甲醇挥尽的油相中,制备成 O/W 型初乳。将制备好的初乳迅速用探头式超声波细胞粉碎机超声分散,功率为 200W,超声 1s,间歇 1s,超声时间 5min,冰水浴冷却,过 0.45 μ m 微孔滤膜。测定粒径 182.52 为 nm, PDI 为 0.052,包封率为 97.59%。

[0062] 实例 3:

[0063] 称取 120mg 甘油棕榈酸硬脂酸酯以及 30mg 辛酸癸酸三甘油酯,6mg 多西他赛,加入少量丙酮溶解,(70 \pm 2) $^{\circ}$ C 加热熔融,作为油相。称取大豆卵磷脂 50mg,聚乙二醇 15 羟基硬脂酸酯 150mg,加注射生理盐水 5mL 超声溶解,迅速加热至油相相同温度作为水相。在磁力搅拌 500r/min 下将水相趁热滴加到丙酮挥尽的油相中,制备成 O/W 型初乳。将制备好的初乳迅速用探头式超声波细胞粉碎机超声分散,功率为 140W,超声 1s,间歇 1s,超声时间 7min,冰水浴冷却,过 0.22 μ m 微孔滤膜。测定粒径为 131.6nm, PDI 为 0.211,包封率为 96.50%。

[0064] 实例 4.

[0065] 称取 120mg 单硬脂酸甘油酯以及 30mg 辛酸癸酸三甘油酯,7mg 多西他赛,加入少量无水乙醇溶解,(75 \pm 2) $^{\circ}$ C 加热熔融,作为油相。称取大豆卵磷脂 50mg,泊洛沙姆 188 称量 150mg,加注射生理盐水 5mL 超声溶解,迅速加热至油相相同温度作为水相。在磁力搅拌 600r/min 下将水相趁热滴加到乙醇挥尽的油相中,制备成 O/W 型初乳。将制备好的初乳迅速用探头式超声波细胞粉碎机超声分散,功率为 200W,超声 1s,间歇 1s,超声时间 6min,冰水浴冷却,过 0.22 μ m 微孔滤膜。测定粒径为 98.73nm, PDI 为 0.214,包封率为 92.40%。

[0066] 实例 5:

[0067] 称取 90mg 鲸蜡醇十六酸酯以及 40mg 注射用花生油,5mg 多西他赛,加入少量无水乙醇溶解,(60 \pm 2) $^{\circ}$ C 加热熔融,作为油相。称取大豆卵磷脂 50mg,聚乙二醇 15 羟基硬脂酸酯 80mg,泊洛沙姆 188 称量 20mg,加注射用生理盐水 5mL 超声溶解,迅速加热至油相相同温度作为水相。在磁力搅拌 400r/min 下将水相趁热滴加到乙醇挥尽的油相中,制备成 O/W 型初乳。将制备好的初乳迅速用探头式超声波细胞粉碎机超声分散,功率为 60W,超声 1s,间歇 1s,超声时间 5min,冰水浴冷却,过 0.22 μ m 微孔滤膜。测定粒径为 29.33nm, PDI 为 0.097,包封率为 97.92%。

[0068] 实例 6.

[0069] 称取 90mg 十六烷基棕榈酸酯以及 40mg 玉米油,5mg 多西他赛,溶于 3mL 无水乙醇和丙酮(1:1)溶液中,于 75 $^{\circ}$ C 的恒温水浴上加热使其充分溶解,作为有机相。取 3%Pluronic F68 溶于 15mL 水中,水浴加热至和有机相相同的温度,作为水相,将有机相在 800r/min 的速度下搅拌下注入水相中,搅拌 3h,温度保持在 (75 \pm 2) $^{\circ}$ C,可得半透明纳米乳剂。将所得纳米乳剂在搅拌 (800-1000r/min) 下快速混于 0 $^{\circ}$ C 的注射用生理盐水中,最后继续搅拌 2h,过 0.45 μ m 微孔滤膜。测定粒径为 294.79nm, PDI 为 0.279,包封率为 89.79%。

[0070] 实例 7:

[0071] 称取 360mg 十六烷基棕榈酸酯以及 160mg 注射用大豆油,20mg 多西他赛,加入少量无水乙醇溶解,(60 \pm 2) $^{\circ}$ C 加热熔融,作为油相。称取大豆卵磷脂 240mg,聚乙二醇 15 羟基硬脂酸酯 360mg,加注射用生理盐水 20mL 超声溶解,迅速加热至油相相同温度作为水相。在磁力搅拌 400r/min 下将水相趁热滴加到乙醇挥尽的油相中,制备成 O/W 型初乳。将制备好的初乳迅速用高压乳匀机在 100psi 的压力乳匀 9 次后,冰水浴冷却,过 0.22 μ m 微孔滤

膜。测定粒径为 157.97nm, PDI 为 0.094, 包封率为 94.87%。

[0072] 实例 8.

[0073] 多西他赛脂质纳米粒制剂的性质的考察方法。采用动态光散射方法使用 Malvern Zetasizer Nano ZS (Malvern, UK) 激光粒度测定仪测定多西他赛脂质纳米粒制剂 (DTX-NLC) 粒径、粒径分布以及 Zeta 电位。采用超滤法测定多西他赛脂质纳米粒制剂的包封率。

[0074] 实例 9.

[0075] 多西他赛脂质纳米粒细胞毒实验方法。采用 MTT 法检测多西他赛脂质纳米粒对人乳腺癌细胞系 (MCF-7) 生长的影响。以不载药的脂质纳米粒 (empty NLC) 和市售泰索帝 (Taxotere[®]) 制剂为对照, 考察系列浓度西他赛脂质纳米粒制剂 (DTX-NLC) 对 MCF-7 细胞作用 48 小时, 72 小时以及 96 小时的生长抑制作用。

[0076] 实例 10.

[0077] 多西他赛脂质纳米粒细胞毒实验方法。采用 MTT 法检测多西他赛脂质纳米粒对人肺腺癌上皮细胞系 (A549) 生长的影响。以不载药的脂质纳米粒 (empty NLC) 和市售泰索帝 (Taxotere[®]) 制剂为对照, 考察系列浓度西他赛脂质纳米粒制剂 (DTX-NLC) 对 A549 细胞作用 48 小时, 72 小时以及 96 小时的生长抑制作用。

[0078] 实例 11.

[0079] 多西他赛脂质纳米粒细胞毒实验方法。采用 MTT 法检测多西他赛脂质纳米粒对人口腔鳞癌细胞系 (KB) 生长的影响。以不载药的脂质纳米粒 (empty NLC) 和市售泰索帝 (Taxotere[®]) 制剂为对照, 考察系列浓度西他赛脂质纳米粒制剂 (DTX-NLC) 对 KB 细胞作用 48 小时, 72 小时以及 96 小时的生长抑制作用。

[0080] 实例 12.

[0081] 多西他赛脂质纳米粒细胞毒实验方法。采用 MTT 法检测多西他赛脂质纳米粒对人纤维肉瘤细胞系 (HT-1080) 生长的影响。以不载药的脂质纳米粒 (empty NLC) 和市售泰索帝 (Taxotere[®]) 制剂为对照, 考察系列浓度西他赛脂质纳米粒制剂 (DTX-NLC) 对 HT-1080 细胞作用 48 小时, 72 小时以及 96 小时的生长抑制作用。

[0082] 实例 13.

[0083] 空白脂质纳米粒生物安全性良好, 将多西他赛包裹于脂质纳米粒中有利于增加细胞的内吞作用, 提高多西他赛对肿瘤细胞生长的抑制作用。相比于泰索帝, 多西他赛脂质纳米粒提高了对肿瘤细胞的细胞毒作用。利用 SPSS Staticstics 18 软件拟合 IC_{50} 值。Taxotere[®] 以及 DTX-NLC 作用 MCF-7 细胞 48 小时的 IC_{50} 值分别是 $2.41 \pm 0.25 \mu\text{g/mL}$, $1.16 \pm 0.12 \mu\text{g/mL}$, 作用 72 小时后的 IC_{50} 值分别为 $0.85 \pm 0.04 \mu\text{g/mL}$, $0.23 \pm 0.04 \mu\text{g/mL}$, 作用 96 小时后的 IC_{50} 值为 $0.12 \pm 0.03 \mu\text{g/mL}$, $0.06 \pm 0.01 \mu\text{g/mL}$ 。DTX-NLC 相比市售制剂 Taxotere[®] 对 MCF-7 细胞作用 48 小时, 72 小时以及 96 小时后的杀伤力分别提高了 2.07 倍, 3.62 倍以及 1.97 倍。Taxotere[®] 以及 DTX-NLC 作用 A549 细胞 48 小时的 IC_{50} 值分别是 $19.94 \pm 0.64 \mu\text{g/mL}$, $2.94 \pm 0.13 \mu\text{g/mL}$, 作用 72 小时后的 IC_{50} 值分别为 $10.90 \pm 0.72 \mu\text{g/mL}$, $1.16 \pm 0.04 \mu\text{g/mL}$, 作用 96 小时后的 IC_{50} 值为 $4.19 \pm 0.38 \mu\text{g/mL}$, $0.48 \pm 0.03 \mu\text{g/mL}$ 。DTX-NLC 相比市售制剂 Taxotere[®] 对 A549 细胞作用 48 小时, 72 小时以及 96 小时的杀伤力分别提高了 6.79 倍, 9.39 倍以及 8.72 倍。Taxotere[®] 以及 DTX-NLC 作用 KB 细胞 48 小

时的 IC_{50} 值分别是 $23.76 \pm 1.22 \text{ ng/mL}$, $11.08 \pm 0.57 \text{ ng/mL}$, 作用 72 小时后的 IC_{50} 值分别为 $12.76 \pm 0.87 \text{ ng/mL}$, $1.43 \pm 0.03 \text{ ng/mL}$, 作用 96 小时后的 IC_{50} 值为 $0.51 \pm 0.07 \text{ ng/mL}$, $0.19 \pm 0.01 \text{ ng/mL}$ 。DTX-NLC 相比市售制剂 Taxotere[®] 对 KB 细胞作用 48 小时, 72 小时以及 96 小时的杀伤力分别提高了 2.14 倍, 8.92 倍以及 2.68 倍。Taxotere[®] 以及 DTX-NLC 作用 HT-1080 细胞 48 小时的 IC_{50} 值分别是 $579.54 \pm 10.94 \text{ ng/mL}$, $337.52 \pm 4.93 \text{ ng/mL}$, 作用 72 小时后的 IC_{50} 值分别为 $185.81 \pm 4.67 \text{ ng/mL}$, $111.32 \pm 1.71 \text{ ng/mL}$, 作用 96 小时后的 IC_{50} 值为 $62.03 \pm 2.48 \text{ ng/mL}$, $23.97 \pm 1.42 \text{ ng/mL}$ 。DTX-NLC 相比市售制剂 Taxotere[®] 对 HT-1080 细胞作用 48 小时, 72 小时以及 96 小时的杀伤力分别提高了 1.72 倍, 1.67 倍以及 2.59。由 IC_{50} 值数值可见, 将多西他赛制备成纳米结构脂质载体后相比于市售 Taxotere[®] 对四种肿瘤细胞在不同时间点的细胞毒作用均有明显提高, 对肿瘤细胞的杀伤力显著增强。

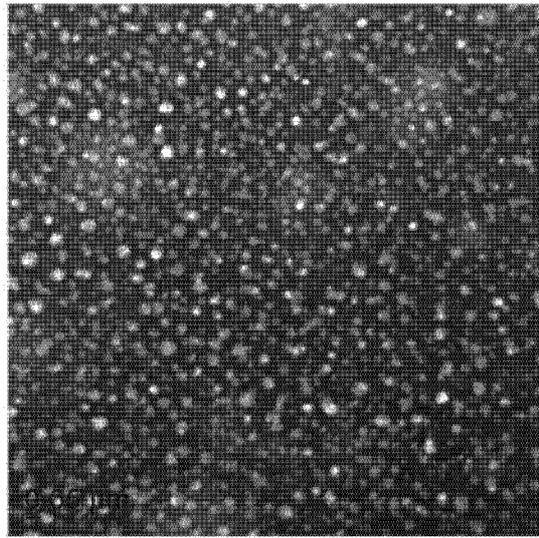


图 1

	Size (d.nm):	% Intensity	Width (d.nm):
Z-Average (d.nm): 32.80	Peak 1: 36.03	100.0	11.31
Pdf: 0.088	Peak 2: 0.000	0.0	0.000
Intercept: 0.937	Peak 3: 0.000	0.0	0.000
Result quality : Good			

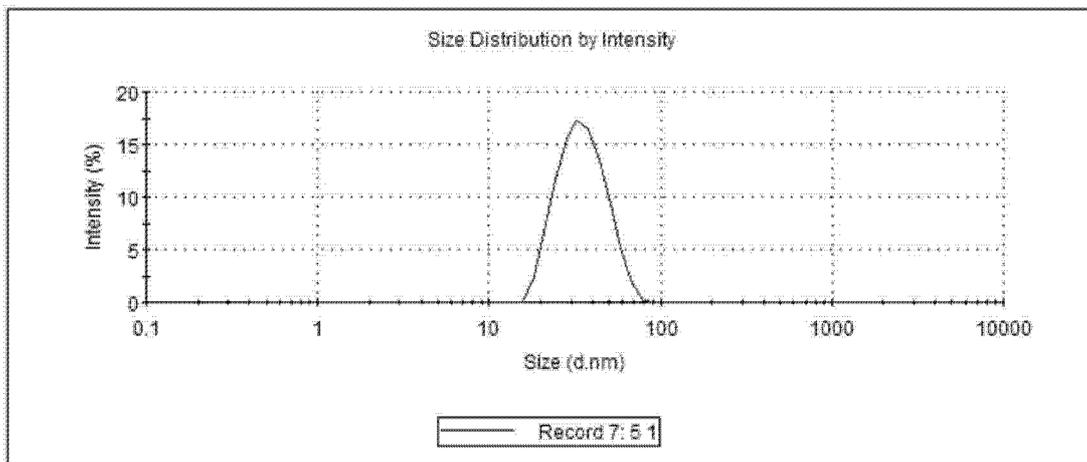


图 2

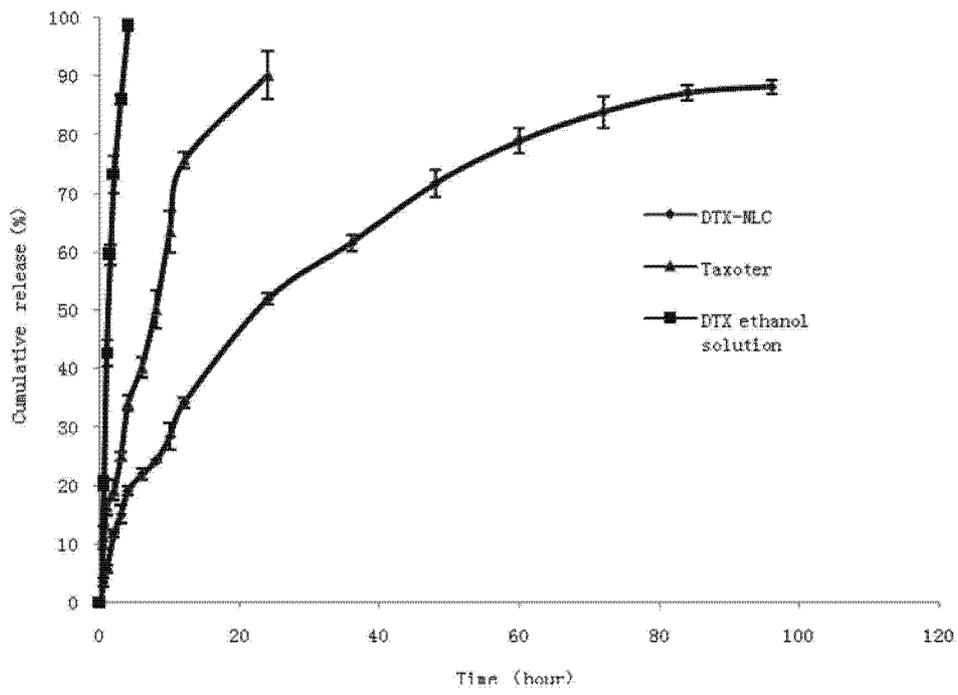


图 3

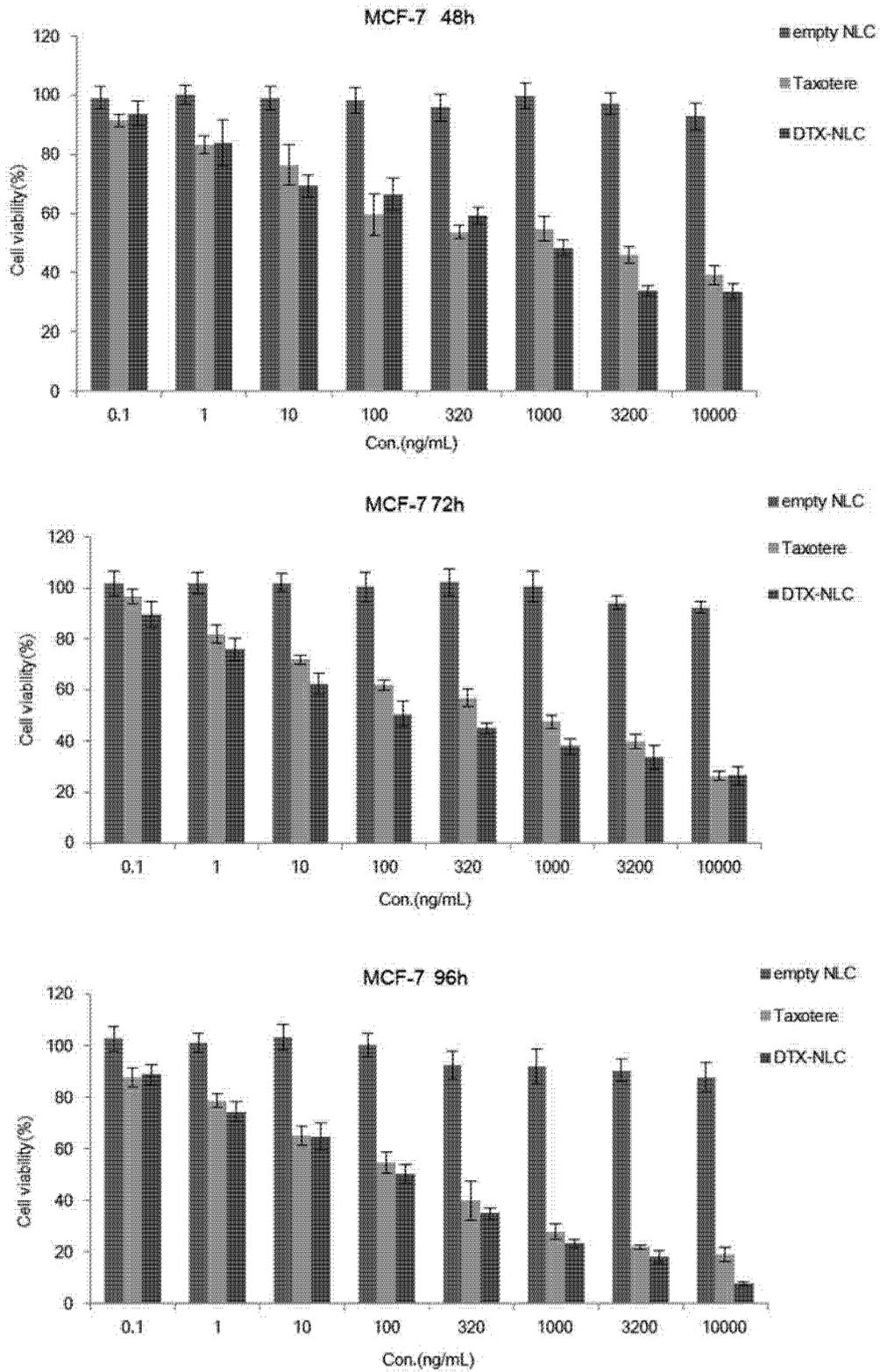


图 4

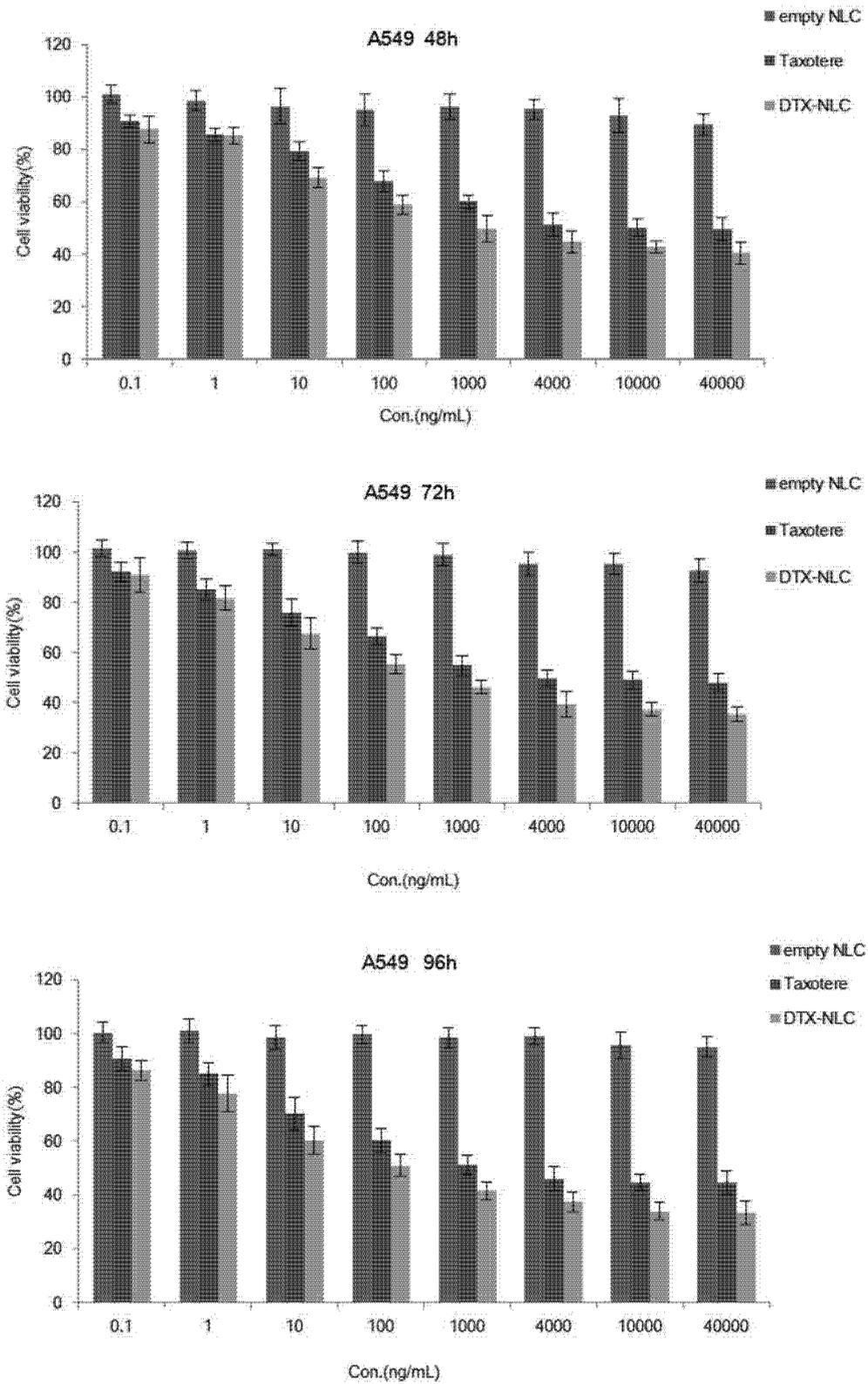


图 5

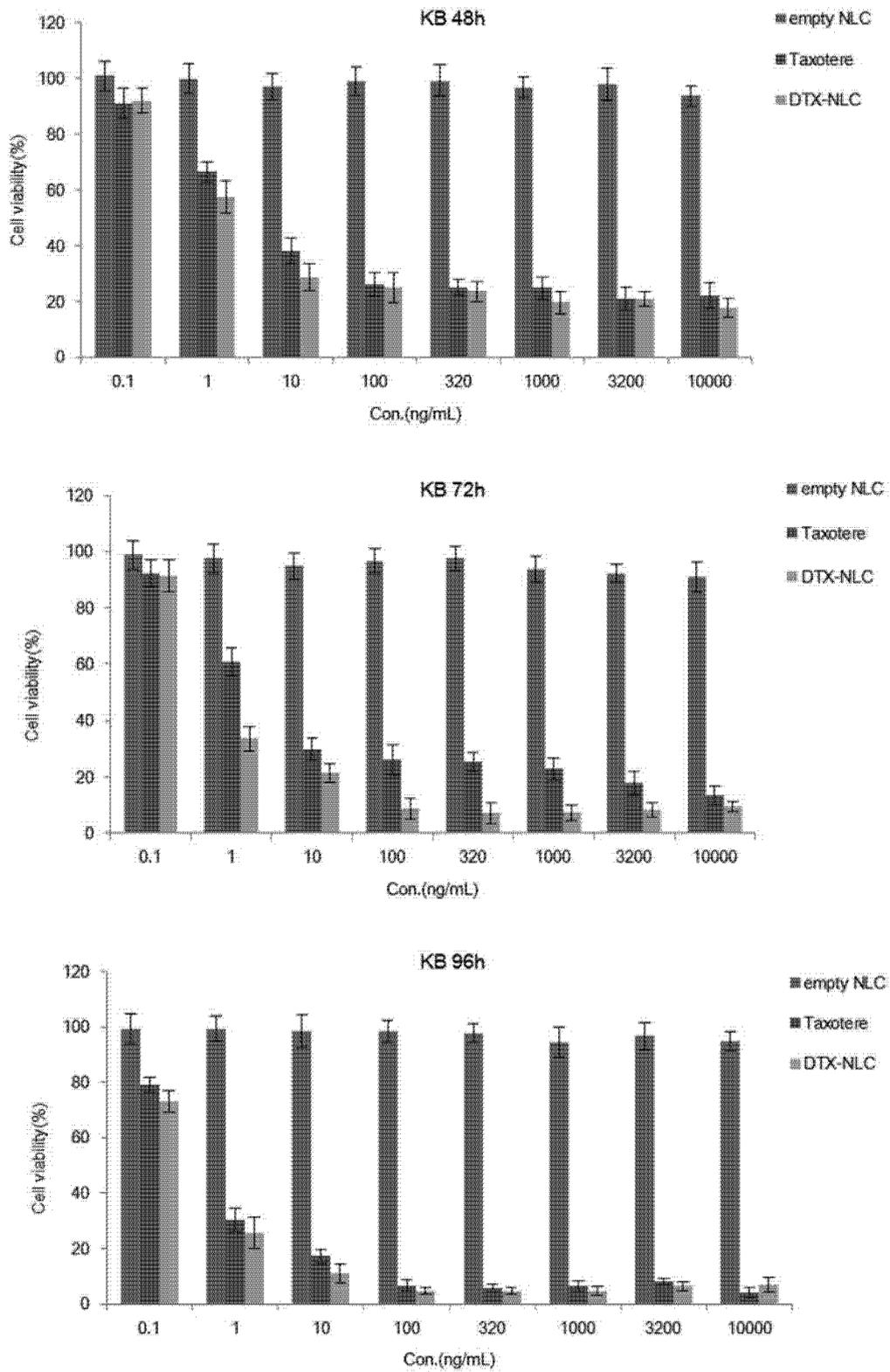


图 6

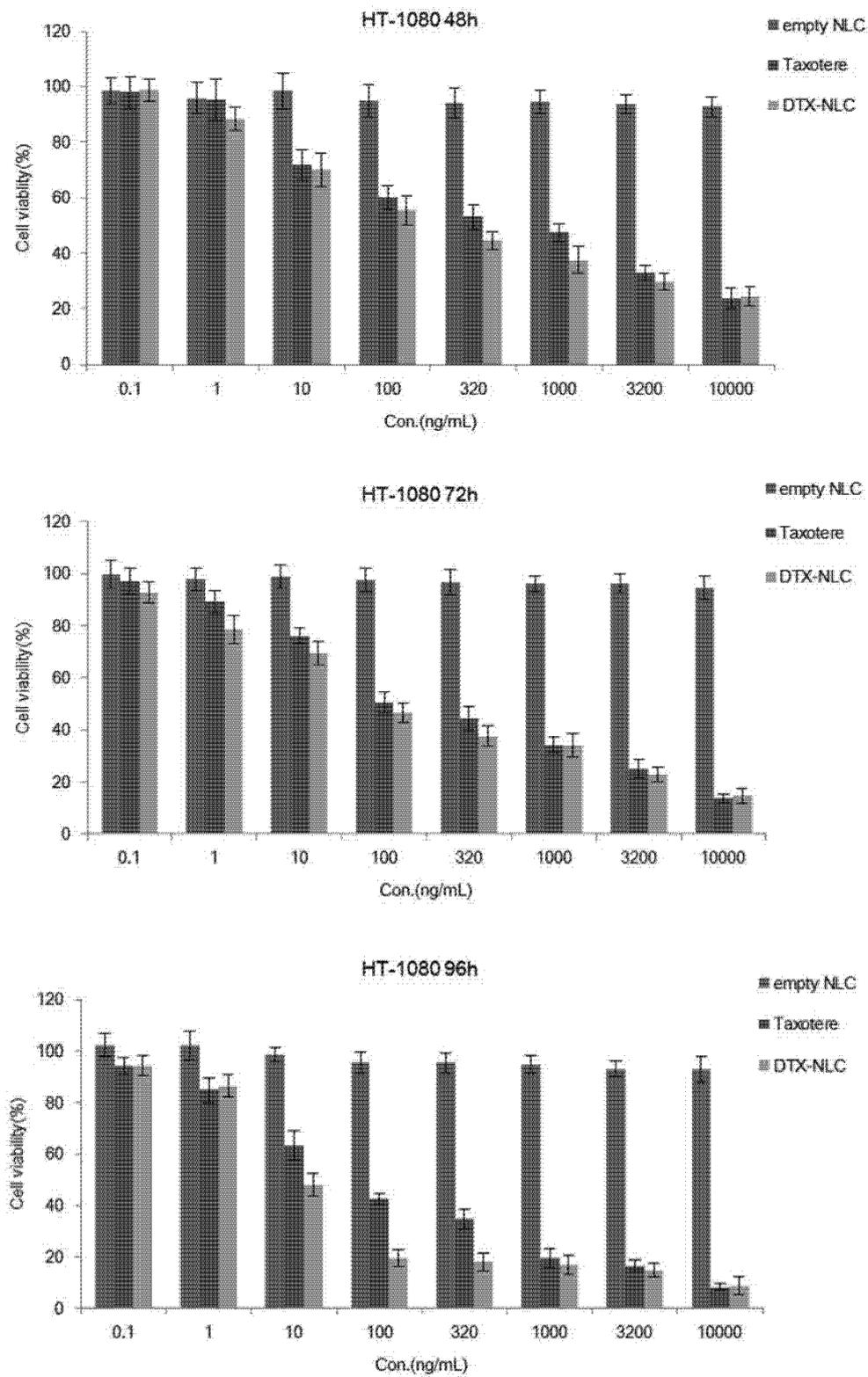


图 7